

レオウィルス複製機構の研究

著者	佐久間 貞俊
号	406
発行年	1973
URL	http://hdl.handle.net/10097/23827

氏名。(本籍)	さくま 佐久間	さだ 貞	とし 俊
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	理	第 4 0 6 号	
学位授与年月日	昭和 4 8 年 6 月 2 7 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
最 終 学 歴	東北大学理学部生物学科卒業		
学位論文題目	レオウイルス複製機構の研究		
論文審査委員	(主査) 教 授	樋渡 宏一	教 授 小西 和彦 助教授 竹内 拓司 助教授 渡辺 泰

論 文 目 次

要 旨	1 頁－6 頁
第一章 本研究の背景と研究目的	7 頁－20 頁
材料および方法	21 頁－36 頁
第二章 LP 分画のトランスクリプターゼとレプリカーゼの性質	37 頁－60 頁
第三章 in vitro 反応で合成された二本鎖RNAとレオウイルス二本鎖RNAの比較	61 頁－76 頁
第四章 in vitroにおける二本鎖RNA合成機構	77 頁－86 頁
第五章 二本鎖RNA合成の中間体のモデル	87 頁－111 頁
第六章 マイナスRNA鎖の合成方向	112 頁－126 頁
第七章 二本鎖RNA合成の開始部位	127 頁－148 頁
第八章 in vitroにおけるレオウイルス二本鎖RNA合とコア粒子の生成	149 頁－182 頁
第九章 総合考察	183 頁－193 頁

論 文 内 容 要 旨

ウイルスを大きく分類すると、DNAウイルスとRNAウイルスに分けられる。DNAウイルスの内、現在のところ、 $\phi \times 174$ フェージに代表される一本鎖DNAを遺伝因子とするウイルスもあるが、大部分は二本鎖DNAをもつ。一方、RNAウイルスの大部分は一本鎖RNAを遺伝因子としている。

二本鎖RNAウイルスとしては、レオウイルス、ブルータングウイルス、カイコの細胞質多角体病ウイルス、植物の創傷腫瘍ウイルス、イネの萎縮病ウイルス、アフリカ馬疫、コロラドチン熱らが今迄に発見されている。

それらのウイルスの複製機構は、多くの研究者によって研究され、二本鎖DNAウイルス、一本鎖DNAウイルス、および一本鎖RNAウイルスの複製機構は徐々に解明されて来ている。しかしながら、二本鎖のウイルスRNAがどのような機構で複製されるかという問題は全く不明であり、ウイルス学の面のみならず、分子生物学の面から大きな興味がある。

このレオウイルスの二本鎖RNAの複製機構の解明のため、レオウイルス感染細胞より二本鎖RNAを合成する酵素(系)、レプリカーゼを抽出し、*in vitro* の系において、レプリカーゼがどのように二本鎖RNAを合成するかを検討したのがこの論文の第一部分である。

まず、*in vitro* の系で合成した二本鎖RNAと、レオウイルスより分離した二本鎖RNAとを比較し、次の諸点で一致することから、レプリカーゼ反応でレオウイルスの二本鎖RNAが合成されることを確認した。

a) *in vitro* のレプリカーゼで作られた二本鎖RNAの長さは、レオウイルスの10ケの二本鎖RNAサブユニット(長さにより、L、M、Sの三群に分ける。)の長さとも一致する。

b) 両者は浮上比重、熱変性曲線でしらべた立体構造、c) 変性-再会合実験でしらべた塩基配列の相補性のいずれでも一致した。次にこの二本鎖RNAの複製機構をしらべ二本鎖RNAは二本鎖DNAの“半保存型”(Semiconservative)の複製と異り、まず二本鎖RNAがよまれて、一本鎖RNAが作られ、その一部が鋳型としてレプリカーゼと結合し、そのRNAの上に相補性のあるRNAが伸長し、二本鎖RNAとなることを見出した。レオウイルス感染細胞より抽出したレプリカーゼは、蛋白と鋳型RNAとの複合体であり、外からレオウイルス特異RNA(二本鎖RNA、変性二本鎖RNA、*m*-RNA)を加えても、この酵素の鋳型RNAにならない。鋳型RNAはレオウイルスの二本鎖RNAがよまれて作られる*m*-RNAと同一であり、これをプラスRNAとすると、*in vitro* のレプリカーゼ反応は、マイナスRNA鎖のみの合成による二本鎖RNAの合成と結論される。そのマイナスRNA鎖の合成方向は、鋳型RNAの3'末端より、すなわちマイナスRNA鎖の5'側から3'側へ伸長することがわかった。またレオウイルスの10ケの二本鎖RNAサブユニットはウイルス粒子中では相互に結合して、約5 μ の一本の二本鎖RNAを形成していることが電子顕微鏡により観察されている。従って、これら10ケのサブユニットがa) 一本に連なって、一端から他端へ連続的に複製されるのか、またはb) 各サブユニットが独立した型で複製され、その後一体に連なるかをしらべ、後者の機構であることを見出した。

この論文の第二の部分は、上記の二本鎖RNAの合成と、ウイルス粒子の形成がどのように関連しているかを検討した。in vitro 反応で二本鎖RNAが合成されると共に、この二本鎖RNAが蛋白の粒子構造中に取込まれている。この二本鎖RNAを取込んだ粒子構造体は、レオウイルスのコア粒子（レオウイルス完全粒子をキモトリプシンで処理してレオウイルス外殻蛋白を取除くことにより得られる45m μ の粒子）と同様の性質を有している。従って、二本鎖RNAの合成と共に、ウイルスコア粒子の形成がなされることがわかった。

これらの結果から、次のように結論する。感染細胞より抽出したレプリカーゼ誘導型RNA複合体は、ウイルスのコア粒子を構成する蛋白をも含んだ高次の構造をもつ複合体であって、レオウイルスの二本鎖RNAの合成過程とウイルスコア粒子の形成過程が相互に密接な関係をもつ。

論文審査の結果の要旨

ウイルスの中で2本鎖DNAウイルス、1本鎖DNAウイルスおよび1本鎖RNAウイルスについては、その複製の機構はかなり明らかにされているが、2本鎖RNAウイルスについては複製機構の研究は殆んど進んでいなかった。

この研究は2本鎖RNAウイルスであるレオウイルスを材料とし、無細胞系でRNA合成を行なわせ、その複製の機構について種々の点を明らかにしたものである。

まず、感染細胞からレプリカーゼを抽出し、これを用いて無細胞系でのRNA合成を行なわせ、出来たRNAがサブユニットの大きさ、塩基配列など何れも細胞内で合成されたものと同じであることを確認し、その合成は2本鎖DNAとは異なり、まず1本鎖RNAが作られ、これが鋳型となって相補的なRNAが合成されて2本鎖となることを見出した。また10ケのサブユニットは別々に複製されて、あとで1本に連なることを確かめた。

さらに無細胞系で合成された2本鎖RNAは合成とともに蛋白粒子中に取りこまれるが、このRNAをとり込んだ粒子はレオウイルスのコア粒子と種々の点で全く同様のものであることを明らかにした。

以上の研究は2本鎖RNAウイルスの複製機構の重要な部分を明らかにしたものであり、ウイルス複製機構の解明に重要な貢献をしたものである。

よって佐久間貞俊の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。